AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 70, №2, səh. 162-171 (2015)

Стратегия Изучения Биологии Апшеронской Популяции Шафрана (*Crocus sativus* L.)

Т.Г. Гарагезов[1*], К.Г. Гасымов[1] С.В. Серкеров[1], Э.Н. Новрузов[1], П.З. Мурадов[2], И.А. Шахмурадов[1]

[1]*Институт ботаники НАНА,Бадамдарское шоссе, 40, Баку АЗ 1004, Азербайджан*
[2] *Институт микробиологии НАНА, Бадамдарское шоссе, 40, Баку АЗ 1004, Азербайджан*
[*]*E-mail: biotexnoloqaz@mail.ru*

Предложен план исследований биологии Абшеронской популяции *Crocus sativus* L., характеризующейся высоким фармакологическим качеством. Предлагается молекулярно-генетическое, биохимическое, микробиологическое и вирусологическое исследование данной популяции с целью стандартизации и сертификации качества продукции шафрана как экоформы, определение статуса данной экоформы как селенонакопителя, выяснение роли ризосферных бактерий в трансформации и круговороте селена, выявление особенностей генетического контроля установления периодов онтогенетического развития и определения стадий компетентности к гормональным факторам при биотехнологическом размножении *C. sativus* L.

Ключевые слова: *C. sativus* L., *селенат, селенит, онтогенез, экоформа, биотехнология*

ВВЕДЕНИЕ

История культивирования шафрана (*C. sativus* L.) насчитывает тысячелетия. Первые достоверные факты об этом удивительном растении относятся к 3-му тысячелетию до нашей эры, когда в древнем Египте и Риме его применяли как лекарственное средство и красящее вещество в кулинарии и парфюмерии. Мировой центр происхождения шафрана не установлен. Н.И.Вавилов (Vavilov,1951) определял его местонахождение на Среднем Востоке, в то время как другие авторы полагают, что вероятной областью его происхождения является Малая Азия или юго-запад Греческих островов (Tammaro, 1990). Результаты сравнительно недавних исследований свидетельствуют о том, что, видимо, начало масштабного культивирования *C. sativus* L. можно отнести к эпохе бронзового века на Крите, откуда и началось его распространение (Negbi,1999; Gresta et al., 2008).

Ежегодно в мире получают от 170 до 300 т цветочной продукции шафрана. Хотя шафран признан самой дорогой пряностью в мире и потребность в нем значительно превышает нормы производства (Winterhalter and Straubinger, 2000; Fernandez, 2004), традиционные посевные площади в ряде стран мира имеют тенденцию к сокращению. Отчасти это связано с его высокой себестоимостью и урбанизацией сельских районов в ряде европейских стран, таких как Испания, Италия, Греция. Сокращение производства было наиболее заметно в Испании, в стране, которая по праву, в недалеком прошлом считалась ведущей среди стран – производителей цветочной продукции шафрана. За последнее десятилетие огромный рост посевных площадей шафрана отмечается в Иране и более 76% этой продукции производится в Иране.

В настоящее время шафран культивируется во Франции, Турции, Швейцарии, Израиле, Индии, Пакистане, Китае, Египте, Объединенных Арабских Эмиратах, Японии и Австралии (Fernández, 2004). Расширяющийся ареал культивирования шафрана включает также Великобританию - Восточный Мидлендс (Yadollahi et al., 2007).

В прошлом в Азербайджане ареал выращивания шафрана был достаточно обширен. Исторически основные посевные площади этой культуры простирались от Апшеронского полуострова в северном направлении вдоль побережья Каспийского моря. За последние 100 лет места культивирования шафрана значительно сократились, и они расположены мозаично на ограниченных площадях Апшеронского полуострова. По официальным данным, бывший шафрановый совхоз в поселке Бильгях ранее занимал площадь 130 га с ежегодной продукцией 150 кг шафрана. В настоящее время площадь посевов под шафран составляет16 га, а по всей республике, учитывая и другие регионы, - 21 га с продукцией 80 кг.

Во многих странах существуют научные центры, занимающиеся изучением шафрана. Исследования, связанные с этим уникальным триплоидным (x=8; 2n=3x=24) растением из семейства *Iridaceae* рода *Crocus*, включающего в

себя около 80 видов, не имеющего полового размножения, неизвестного в диком состоянии (Mathew, 1977; Ghaffari, 1986; Chichiricco, 1999; Grilli and Faoro, 2004), можно подразделить на ряд направлений: агротехника и экофизиология, пищевые технологии, медицина, фармакология и парфюмерия.

Использование шафрана как лекарственного растения уходит корнями в древние цивилизации. Традиционно шафран применяется как болеутоляющее, антидепрессантное, противоотечное (при респираторных заболеваниях), спазмолитическое, возбуждающее, потогонное, отхаркивающее и седативное средство. С токсикологической точки зрения оно может считаться относительно безопасным, так как его $ЛД_{50}$=20 гр/кг (Bisset, 1994), однако для медицинской практики эта оценка весьма относительна и требует индивидуальной корректировки. Он используется против скарлатины, оспы, простуды, астмы, болезней глаз, болезней сердца и опухолей (Abdullaev, 2002; Abdullaev and Espinoza-Aguirre, 2004; Aung et al., 2007; Wang et al., 2010). Биологическая активность шафрана показана относительно ингибирования тирозиназы (Li and Wu, 2002; 2004). Описаны противосудорожное (Hosseinzadeh and Younesi, 2002), мутагенное (Abdullaev and Espinoza-Aguirre, 2004), цитотоксическое и антигенотоксическое действие (Abdullaev et al., 2003). Экстракты из рылец Crocus S.L используются при лечении и профилактике болезни Альцгеймера и возрастной деградации (Falsini et al., 2010; Papandreou et al., 2006). Свойство шафрана как химиопрофилактического средства против рака, подавляющего рост опухолей, в последние годы было продемонстрировано в научных исследованиях с обнадеживающими результатами как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* (Abdullaev, 2002; Ahmad et al., 2005; Hosseinzadeh et al., 2005; Komoshima and Takasahi, 2003; Magesh et al., 2006; Ochiai et al., 2004; Soeda et al., 2005; Aung et al., 2007; Amin et al., 2011).

Увеличивающийся в мире спрос на продукцию шафрана стимулирует исследования, направленные на его воспроизводство, в том числе и с применением современных технологий на основе молекулярно-генетического анализа (Fernández, 2004; 2007). Несмотря на наличие многих проблем, связанных с биотехнологией размножения шафрана (Карагезов и др., 2015), данное направление считается как приоритетное на ближайшие 100 лет (Fernández, Abdullaev, 2004). Биотехнология имеет два тесно связанных между собой аспекта развития: один как инструмент для реализации генетического усовершенствования, второй - для разработки микроклонального размножения как через культуру меристем, так и через индукцию соматического морфогенеза. Методология *in vitro* также дает возможность получения безвирусного посадочного материала путем термо- и химиотерапии.

В настоящее время поиски новых методов оценки качества продукции шафрана и химического состава вторичных метаболитов проводятся с целью разработки целостного подхода для воспроизводимых и стандартизированных процедур (Caballero-Ortega et al., 2007; Sampathu et al., 1984; Roedel and Petrzika, 1991; Tarantilis and Polission, 1997; 2004; Zalacain et al., 2005; Assimiadis et al., 1998). Именно фармакологическая оценка цветочной продукции шафрана, исходя из современных представлений о механизмах антиканцерогенеза, требует использования современных инструментальных методов анализа.

В последние годы попытки установить родство *C. sativus* L. с другими видами крокусов на основе молекулярно-генетических исследований не только не дали возможность достоверно определить его вероятного дикого предшественника, но даже не позволили приблизиться к пониманию его возникновения, а именно: образовался ли этот вид искусственным или естественным путем (Fluch et al., 2010)

Мнение о том, что *Crocus* sativus L. как вид по всему миру является однородным и стабильным биологическим символом, основывается на том, что морфологически шафран, будучи клоном, имеет большое единообразие в посевных площадях (Brighton, 1977; Mathew, 1977). Определенные внутривидовые различия, отмечаемые только относительно морфологии и биохимии (Tammaro, 1990), зависят от места их исторического культивирования. Имеющиеся же разночтения при анализе генома, *C. sativus* L. весьма возможно, были связаны с методическими подходами, при которых прокариотические последовательности не принимались во внимание (Husaini et al., 2009). Исследования полиморфизма ДНК шафрана на основе RAPD РЦР анализа из пяти различных ареалов культивирования в Европе и Израиле не выявили каких-либо значительных различий в геноме и различались только по морфологии и биохимическим показателям (Grilli et al., 2004). Однако существует мнение, что данное исследование на основе метода скрининга не дало возможности обнаружить имеющиеся генетические различия (Gresta et al., 2008).

Установленные факты генетической стабильности *C. sativus* L. как вида в отсутствие полового размножения, весьма возможно, могут быть связаны с тем, что размножение клубнелуковицами не позволяет выявить геномные ва-

риации в связи с традиционными методами селекции по стандартным признакам, которые осуществляются на протяжении тысячелетий и это как результат в конце концов приводит к сужению внутривидового полиморфизма, когда клоновые вариации не закрепляются в последующих поколениях. Недавние исследования позволили установить достаточно высокий уровень генетического разнообразия у различных генотипов *C. sativus* L. (Imran et al., 2010).

Проблема фитосанитарного контроля *C. sativus* L. как вида наиболее остро проявилась в последние годы, и связано это с 50% потерей урожая шафрана вследствие высокой инфицированности посадочного материала различными патогенами. У *C. sativus* L. идентифицированы десятки вирусных заболеваний (Grilli and Faoro, 2011), в том числе потивирусы, являющиеся бессимптомной инфекцией. Одной из причин инфицированности этого вида является отсутствие барьеров между странами, и часто их источником является посадочный материал из Европы (Faoro, 2011). Изучение форм вирусных инфекций совместно с другими патогенами (бактерии и грибы), влияющих на урожайность шафрана и биосинтетические потенции этого вида, в конечном итоге определяющих коммерческую ценность продукции шафрана, рассматривается как одно из важнейших направлений в исследованиях биологии *C. sativus* L.

Именно вирусологические исследования последних лет позволили в определенной степени пролить свет на природу различных экоформ *C. sativus* L. В настоящее время наличие многих вирусов в шафране рассматривается как результат коэволюции. Например, наличие однотипных вирусов в одном из гипотетических предков *C. sativus* L. - *Crocus cartwrightianus* (Caiola and Faoro, 2011) позволяет предполагать, что эти вирусы заражают *C. sativus* L. с древнейших времен. Ранее обсуждаемая как гипотетическое предположение роль вирусов в становлении экоформ шафрана в связи с особенностями их метаболической активности в настоящее время представляется как реальный результат горизонтального обмена генов, связанных с метаболизмом.

Кроме вирусов, бактерии и грибы также способны вызывать различные патологии, в результате которых урожайность и биологическая стабильность растений шафрана значительно ослабляются. Однако, данный вопрос, а также совместная роль различных патогенов (вирусы, грибы) в биологии растения практически не исследована. Исходя из этого, для достижения высокой урожайности и биосинтетических популяций *C. sativus* L., данное направление считается одним из важнейших.

Ценность шафрана не исчерпывается только наличием первичных (Sampathu, 1984) и вторичных метаболитов, принадлежащих к каротиноидам, флаваноидам, ди- и монотерпенам, антоцианам, обнаруживаемое количество которых постоянно увеличивается (Straubinger et al., 1997; 1998; Carmona et al., 2006 ; 2007; Ghosal et al., 1989; Fernández, 2004; Li and Wu, 2004).

Существует еще один элемент, который весьма возможно сам, а более вероятно совместно с другими соединениями обеспечивает весь спектр уникальных фармакологических качеств этого растения. Этим элементом является селен. *Crocus* S.L, как представитель семейства Iridaceae обладает способностью аккумулировать селен в своих тканях, переводя токсичный неорганический селен в органические формы. Однако тип этого растения относительно накопления Se до сих пор не установлен, также как и эта зависимость от типа почв и фонового содержания в них селена. Статус *C. sativus* L. как селенонакопителя и преобразователя неорганического селена в органические формы практически не исследован. Первые факты преимущества селена в подавлении карциномы и облегчения симптомов, связанных со СПИДом, были установлены сравнительно недавно (Jansson, 1980; Hori et al., 1997; Caiola and Faoro, 2011), а токсичность селена была известна достаточно давно - уже в 19 веке (Duckart et al.,1992).

Биологические функции соединений селена характеризуются чрезвычайно широким спектром действия, начиная от опухолевых, сердечно-сосудистых заболеваний, эндемических нефритов, эндемического зоба и кретинизма, ревматоидных артритов до мутаций РНК-вирусов (Ермаков, 2004). Селен играет важную антиоксидантную роль в биосфере, которая до настоящего времени остается основополагающей в метаболических функциях соединений селена (Diplock,1970). Исключительно важная роль селена выявлена в случае профилактики йодной недостаточности на фоне дефицита селена - в этом случае коррекция йодом оказывается мало эффективной (Ermakov, 2001). Следует отметить, что в ряде случаев имеется совпадение биологического действия селена и экстрактов шафрана.

Накопление селена в почве характерно для пустынных и полупустынных регионов, которые имеют щелочные почвы, и связано с выветриванием селеносодержащих пород и сланцев. Источником селена являются нефтегазодобыча (пластовые воды), нефтеперерабатывающая промышленность, дренажные воды с/х производст-

ва. До 30% селена поступает в почву с атмосферными осадками. Еще одним важным источником перераспределения селена в атмосфере является способность многих растений преобразовывать неорганический Se в летучие формы (преимущественно диметилселенид). Этот процесс получил название phytovolatilization – фитоволатилизация - «поглощение и транспирация токсичных соединений, в первую очередь органических, растениями» (Schnoor, 1997; Barillas et al., 2011). Селен также может существовать и в других летучих формах–диметилдиселенид (ДМД Se), диметиловый селенон, диметилселенидсульфид, метанселенон (Fan et al., 1997; Reamer, Zoller, 1980;). Этот механизм используется растениями для уменьшения уровня токсичности накопленного селена.

Скорость испарения Se-производных различна для разных видов (Duckart et al., 1992; Pilon-Smits et al.,1999; Terry et al., 1992; Terry and Lin,1999). Значительный вклад в испарение Se из почвы вносят почвенные микроорганизмы (Brady et al., 1996; De Souza and Terry 1997; Fan et al., 1997; Fleming and Alexandr 1972; Rayel and Frankenberger 1996; Terry and Zayed, 1994; Thompson-Eagle et al., 1989).

C. sativus L. в ряду селенонакопителей может занимать особое место. Поглощение селена из атмосферы и его обратное выделение в виде летучих соединений составляет важный элемент в цикле кругооборота селена**.** По некоторым сведениям, 70% селена в дождевых водах может иметь атмосферное происхождение. Предполагается, что это связано не только с атмосферным переносом, но и, по – видимому, с выделением селена из почвы в атмосферу. Коэффициент распределения газообразных форм селена между атмосферным воздухом и почвой равен 0,7. Считается, что на почвенный покров планеты выпадает с атмосферными осадками различного происхождения около 400мкг селена Se / $м^2$ / год, а выделяется в атмосферу около 310мкг (Ермаков, 2004). Результаты данного баланса укладываются в границы теоретических оценок (Haygarzth et al., 1993).

Время цветения *C. sativus* L. само по себе необычайно кратковременно. Шафран имеет обратный биологический цикл развития, по сравнению с большинством культурных растений, что указывает на то, что онтогенетическое развитие этого вида напрямую направлено только на образование новых клубнелуковиц (Gresta et al., 2008). Эти факты подчеркивают особую роль и важность цветения для судьбы селена и его соединений в этом растении.

Исходя из того, что метаболизм селена у всех растений как аккумуляторов, так и неаккумуляторов биологически направлен на его удаление из растения, накопление селеносодержащих соединений именно в рыльцах цветков Crocus S.L можно рассматривать как механизм детоксикации растительного организма от соединений, обладающих токсическим эффектом.

Относительно *C. sativus* L. имеется еще один интереснейший аспект, связанный именно с особенностями его биологии и метаболизма, а именно: какова природа взаимосвязи между S-аденозилметионином (SAM), который является предшественником этилена - коррелятивного гормонального регулятора в процессах онтогенетического развития, начиная от периода покоя и кончая процессом цветения, и Se-аденозилметионином. Не ясно, являются ли эти процессы взаимосвязанными или же они находятся под контролем различных программ.

В настоящее время показано, что селенат, попавший в растения путем сульфатного механизма подвергается деструкции и метаболизируется в хлоропластах листового аппарата (De Souza et al.,1998; Zayed et al., 1998). Имеются также данные, что синтез селеносодержащих аминокислот происходит в хлоропластах (Ng, Anderson,1979). В этой связи представляется интересным вопрос взаимосвязи селеноорганических соединений, синтеза каротиноидов и их транспорта в цветочные органы *C. sativus* L.

Таким образом, представленная информация свидетельствует, что роль такого важного микроэлемента растения, как селен, достаточно сложна, малоизучена и интенсивно разрабатывается. В настоящее время пути коррекции Se -статуса населения основываются на поисках технологий земледелия, способствующих усвоению растениями внесенного селена, основа которых была заложена во второй половине 20 века (Grant, 1965), и в настоящее время эти подходы оформились в промышленное производство различных с/х культур, обогащенных селеном (Pedreo et al., 2007; Хрынкина, 2007; Голубкина и др., 2010a; b.) . Особое внимание уделяется с/х растениям с высоким природным пулом различных соединений, обладающих антиоксидантной активностью, например, таких как флавоноиды (Пушкарев и др., 2007). С этой точки зрения *C. sativus* L. является практически неизученной культурой.

Статус шафрана как селеноаккумулятора не определен. В местах исторического культивирования *C. sativus* L. в Азербайджане не установлен фоновый уровень почвенного селена, не известен химический состав селенонеорганических соединений в почвах, их соотношение с элементами, определяющими его транспорт в

растение *C. sativus L.* Роль продукции шафрана в проблеме коррекции селенового статуса населения для ликвидации дефицита селена не изучена и не использована в Азербайджане.

Более того, принимая во внимание разнообразие природных экосистем в Азербайджане, данные рекомендации должны быть разработаны для каждого региона в отдельности. Исходя из уровней антропогенного загрязнения окружающей среды и связанных с ними рисков, использование цветочной продукции шафрана позволит также в полной мере использовать весь спектр фармакологической активности этого растения.

Сложившаяся на сегодняшний день ситуация относительно Абшеронской популяции *C. sativus* L. в полной мере критическая. Частично сохранившееся производство шафрана ведется без научно обоснованных методов современной агротехнологии шафрановодства.

Абшеронский шафран на сегодняшний день не проанализирован не только в отношении спектра патогенов, но и не сертифицирован как экоформа молекулярными методами. Сокращение посевных площадей, отсутствие сертифицированного маточного производства посадочной продукции шафрана, урбанизация районов культивирования, тотальное агропочвенное загрязнение территорий, в том числе патогенное давление, ранее несвойственное данному району, отсутствие сертификационных нормативных стандартов цветочной продукции, бесконтрольный массовый завоз посадочного материала из различных мировых центров культивирования шафрана в самом скором времени приведут к потере эндемического качества и исчезновению Абшеронской популяции шафрана, как экоформы, которая исторически является одним из ботанических символов Азербайджана, а ее цветочная продукция по своему качеству является одной из лучших в мире.

Исследований по влиянию антропогенного загрязнения, в том числе и тяжелых металлов на биологию развития *C. sativus* L. мало, и во многом это связано с тем, что к территориям масштабного культивирования лекарственных и эфиромасляничных растений предъявляются особые требования. Имеющиеся данные (Hadizadeh and Keyhan, 2007) свидетельствуют, что, например, такой известный загрязнитель как кадмий обладает значительной токсичностью на развитие растений *C. sativus* L., а проведенный нами выборочный анализ почвы в местах культивирования шафрана в поселке Бильгях показывает, что содержание тяжелых металлов превышает ПДК по As в 5 раз; Pb – в 4,3 раза, Cu – в 14 раз; Ni – в 4 раза; Cd - в 7,6 раз.

Представленный ниже план исследований позволит в определенной степени не только исправить существующее на сегодняшний день положение, но и более того, результаты предлагаемых исследований позволят осуществить поиск новых территорий для культивирования *C. sativus* L.

Предлагаемые направления комплексных исследований

1. Мониторинг территорий Азербайджанского полуострова в районах культивирования *C. sativus* L.:

1.1. Анализ почв на предмет определения форм неорганического селена и их концентраций. Это позволит установить концентрации и соотношения селената и селенита в почвах; установить границы «селеновых провинций», градиенты фонового содержания селена.

1.2. Изучение химического состава почв, в первую очередь, сульфатного засоления, фона хлоридного засоления. Это позволит установить соотношение Se/S, уровень засоления NaCl, определяющих эффективность поглощения Se растениями путем использования сульфатного механизма, а также влияние солености почв на этот процесс.

1.3. Определение содержания тяжелых металлов в почвах. Наличие тяжелых металлов и картина их распределения важна для учета их влияния на жизнедеятельность грибов и бактерий, определяющих трансформацию неорганического селена и, тем самым, влияющих на пул селеносодержащих соединений в *C. sativus* L. и поступающих в растения через корневую систему. Кроме того, не изучено влияние тяжелых металлов на функционирование сульфатного механизма поступления селена в растения и метаболитическую активность этой культуры.

1.4. Определение неорганического селена в природных водах, используемых для орошения. Это позволит установить вклад грунтовых вод в уровень накопления Se в почве.

1.5. Определение Se в воздухе.

1.5.1. Определение летучих форм Se в весенний, летний, осенний периоды.

1.5.2. Определение неорганического Se в составе взвешенных мелких твердых частиц (PM 10^{-2}; 10^{-4} см) на фильтрах с учетом направления господствующих ветров.

1.5.3. Определение различных форм Se в атмосферных осадках.

1.5.4. Определение уровня выделения летучих форм Se растениями *C. sativus* L. по фазам развития (листовые, цветочные органы, клубнелуковицы).

1.6. Изучение видового состава микроорганизмов (бактерий, грибов) в почве районов культивирования *C. sativus* L., в том числе ризосферных бактерий, играющих важную роль в трансформации и кругообороте Se.

1.7. Изучение влияния тяжелых металлов на численность и видовой состав микроорганизмов.

1.8. Выявление, систематизация бактерий и грибов – продуцентов гиббереллина и гиббереллиновых соединений, сезонная динамика их активности.

Эти исследования позволят установить взаимозависимость урожайности цветочной продукции *C. sativus* L. от видового состава продуцентов гиббереллина. Получение чистых культур штаммов даст возможность биотехнологического культивирования и применения культуральных жидкостей для увеличения в почве гиббереллинов с целью повышения урожайности.

2. Разработка и усовершенствование инструментальных методов анализа для стандартизации качества продукции Абшеронского шафрана, исходя из критериев цвета, вкуса и аромата, согласно инструкции ЕС по классификации Международной организации по стандартизации (ISO).

3. Установление уровней накопления, идентификации спектра органических форм селена в растении *C. sativus* L.

3.1. Динамика и градиент накопления селена в клубнелуковицах, вегетативных и цветочных органах растения.

3.2. Соотношение свободных и связанных (белковых) соединений селена в различных органах.

3.3. Определение периодов накопления, трансформации и транспорта селена в цветочные органы (определение мест синтеза, транспортных форм, соотношение свободных и связанных селеносодержащих органических соединений).

3.4. Изучение протопигментов и их транспорт и накопление в цветочных органах (установление первичного сайта синтеза пигментов и взаимосвязь накопления пигментов и селенопроизводных).

3.5. Определение органических, в том числе и летучих форм селена, в почве как продуктов жизнедеятельности бактерий и грибов.

4. Реализация программы по фитосанитарному контролю азербайджанской популяции *C. sativus* L.

4.1. Диагностика инфицированности абшеронской популяции *C. sativus* L.

Реализация данного направления позволит идентифицировать спектр патогенных инфекций у *C. sativus* L. И успешно внедрять методы термо- и химиотерапии для искоренения вирусов и других патогенов с использованием методологии клеточной биотехнологии.

5. Анализ полиморфизма Апшеронской популяции шафрана.

5.1. Изучение организации генома и экспрессии генов *C. sativus* L. на отдельных этапах онтогенеза с применением микрочипового анализа.

5.2. Сравнительный анализ спектра экспрессии генов шафрана в зависимости от ареалов культивирования в Азербайджане.

5.3. На основании результатов молекулярно-генетических исследований выявление стадий компетентности к гормональным факторам для индукции эмбриогенеза, морфогенеза и органогенеза *in vitro.*

6. Биотехнологические аспекты размножения *C. sativus* L. в условиях *in vitro*.

Эти исследования позволят интенсифицировать меры, направленные на получение посадочного материала в объеме, удовлетворяющем потребностям рынка, дадут возможность получить безвирусный посадочный материал путем термо- и химиотерапии в условиях *in vitro*, создать плацдарм для генетических манипуляций с видом *C. sativus* L. по определенным признакам.

ЛИТЕРАТУРА

Голубкина Н.А., Пышная О.Н., Бондарева Н.В., Дерягина В.П. (2010а) О производстве порошка сладкого перца, обогащенного селеном, как функционального продукта питания с высокой антиоксидантной активностью. *Вестник овощеводства,* **№1(4):** 35-37.

Голубкина Н.А., Сирота С.М., Пивоваров В.Ф., Яшин Я.И., Яшин И.Я. (2010в) Биологически активные соединения овощей. М.: ВНИИССОК, 200 с.

Ермаков В.В. (2004) Биогеохимия селена и его значение в профилактике эндемических заболеваний человека. Вестник. Отделение наук о земле РАН. *Электронный научно-информационный журнал,* **№1(22):** 1-17.

Карагезов Т.Г., Мамедова М.Г., Азизов И.В., Асадова С.Ш. (2010) Особенности каллусообразования и регенерации растений шафрана (*Crocus sativus* L.). *Мат. Межд. конференции с элементами научной школы для молодежи,* Мичуринск: 163-167.

Пушкарев А.Л., Голубкина Н.А., Кошелева О.В. (2010) Обогащение броколли селеном с использованием АПИОНов. Биологические основы садоводства и овощеводства. *Материалы международной конференции.* Мичу-

ринск: Мичуринский госагро университет, с. 261-266.

Хрынкина Ю.А. Голубкина Н.А., Никушин В.П. (2007) Исследования экологически безопасных путей повышения селен аккумулирующей способности человека. *Новые и нетрадиционные растения и перспективы их исследования. Материалы конференции.* М: РУДН, **2:** 331-332.

Abdullaev F.I. (2002) Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Exp.Biol. Med.*, **227:** 20-25.

Abdullaev F.I., Riveron-Negrete L., Caballero-Ortega H., Herdandez J.M.,Perez-Lopez I., Pereda-Miranda R., Espinosa-Aguirre J.J. (2003) Use of in vitro assays to assess the potential antigenotoxic and cytotoxic effects of saffron (*Crocus sativus* L.). *Toxicol. Vitro,* **17:** 731-736.

Abdullaev F.I., Espinosa-Aguirre J.J. (2004) Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials, *Cancer Detect. Prev.,* **28:** 426-432.

Abrams M.M, Shennan C., Zazoski J., Burau R.G. (1990) Selenomethionine uptake by wheat seedlings. Agron. J. 82: 11 27-30.

Ahmad A.S., Ansari M.A., Ahmad M., Muzamil S.S., Yousuf S., Hoda M.N., Islam F. (2005) Neuroprotection by crocetin in a hemiparkinsonian rat model. *Pharmacol. Biochem. Be.*, **81:** 805-813.

Amin A., Hamza A.A., Bajbouj K., Ashraf S.S. and Daoud S. (2011) Saffron: A potential candidate for a novel anticancer druq against hepatocellular carcinoma. *Hepatology,* **54:** 857 -867.

Aung H.H., C.Z. Wang M. Ni., A. Fishbein, S.R. Mehendale, J.T. Xie, A.Y. Shoyama, Yuan C.S. (2007) Crocin from *Crocus sativus* possesses signifi cant anti-proliferation effects on human colorectal cancer cells. *Experimental Oncology,* **29:** 175-180.

Barillas Jose´ Rodolfo Walder, Colinf Quinn and Elisabeth A.H. Pilon-Smits (2011) Selenium Accumulation in Plants – Phytotechnological Applications and Ecological Implications. *International Jounal of Phytoremidation,* **13(81):** 1-13.

Bisset N.G. (1994) Herbal drugs and phytopharmaceuticals. *Medpharm Scientific Publucations,* Stuttgart.

Brady J.M., Tobin J.M., Gadd G.M. (1996) Volatilization of selenite in aqueous medium by a *Penicillum* species. *Mycol. Res.*, **100:** 955-961.

Brighton C.A. (1977). Cytology of *Crocus sativus* L. and its allies (*Iridaceae*). *Plant Systematics and Evolution,* **128:** 137-157.

Carmona M., Zalacain A., Sancez A.M., Novella J.L., Alonso G.L. (2006) Crocetin esters, picrocrocin and its related compounds present in *Crocus sativus* stigmas and *Gardenia jasminoides* fruits. Tentative identification of seven new compounds by LC-ESI-MS. *J. Agr. Food Chem.*, **54:** 973 -979.

Carmona M., Sancez A.M., Ferreres F., Zalacain A., Tomas- Berberan F., Alonso G.L. (2007) Identification of the flavonoid fraction in saffron spice by LC/DAD/MS/MS: comparative study of samples from different geographical origin. *Food Chem.,* **100:** 445-450.

Chichiricco G. (1999) Sterility and perspectives for genetic improvement of *Crocus sativus* L. In: M.Negbi (ed.). Amsterdam: Harwood Academic Publishers, p. 127-135.

De Souza M.P., Terry N. (1997) Selenium volatilization by rhizosphere bacteria. *Abstr. Gen. Meet. Am. Soc. Microbiol.* **97:** 499.

Diplock A.T. (1970) Recent studies of interaction between vitamin E and Selenium. *Trace element metabolism in animals.* Ed. By C.F.Mills. Edinburgh and L: E and S. Livingstone, p. 190-203.

Duckart E.C., Waldron L.J, Donner H.E. (1992) Selenium uptake and volatilization from plants growing in soil. *Soil. Sci.,* **153:** 94-99.

Ehsanzadeh P., Yadollahi A.A., Maibodi A.M.M. (2004) Productivity, growth and qualita attributes of 10 Iranian saffron accession under climatic conditions of Chahar-Mahal Bakhtiari, Central Iran. *Acta Hort.*, **650:** 183-188.

Ermakov V.V. (2001) Problems of extremal geochemical ecology and biogeochemical study of the biosphere. B*iogeochemistry and Geochemical Ecology.* M.: Publ .GUN NPC TMG MZ RF, 98-144

Falsini B., Piccardi M., Minnella A., Savastano C., Capoluongo E., Fadda A., Balestrazzi E., Maccarone R., Bisti S. (2010) Saffron supplementation improves retinal fl icker sensitivity in early age-related macular degeneration. *Investigative Ophtalamology & Visual Science,* **51:** 577-587.

Fan T.W-M., Lane A.N., Higashi R.M. (1997) Selenium biotransformations by a euryhaline microalga isolated from a saline evaporation pond. *Environ. Sci. Technol.,* **31:** 569-76

Faoro F. (2011) Latent virus infections in *Crocus sativus* and *Crocus cartwrightianus Phytopathol. Mediterr.,* **50:** 175-182.

Fernández J.A. (2004) Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. *Recent Research in Developmental Plant Science,* **2:** 127-159.

Fernández J.A., Abdullayev F. (2004) Foreword and Preface. *Online articles of I International Symposium on Saffron Biology and Biotechnology.* **http:www.ishs-article/650_0**

Fernandez, J.A. (2007) Genetic resources of saffron and allies (*Crocus* spp.). *Acta Horticulturae,* **739:** 167-185.

Fleming R.W., Alexander M. (1972) Dimethylselenide and dimethyltelluride formation by a strain of *Penicillum*. *Appl. Microbiol.*, **24:** 424-29.

Fluch S., Hohl K., Stiezschneider M., Kopesky D., Kaar B. (2010) *Crocus sativus* L.- Molecular evidence on its clonal origin. *Acta Hort (ISHS),* **850:** 41-46.

Ghaffari S.M. (1986) Cytogenetic studies of cultivated *Crocus sativus* (*Iridacee*). *Plant Syst. Evol.,* **153:** 199-204.

Ghosal S., Singh S.K., Battacharya S.K. (1989) Mangicrocin, and adaptogenic xanthone - carotenoid glycosidic conjugate from saffron. *J. Chem. Res.*, **S3:** 70-71.

Gresta F., Lombardo G.M., Siracusa L., Ruberto G. (2008) Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development.* Germany: Springer Verlag, **28(1):** 95-112.

Grilli M.C. (2004) Saffron reproductive biology. *Acta Horticulture.* **650:** 25-37.

Grilli M.C., Faoro F. (2011) Latent virus infections in *Crocus sativus* and *Crocus cartwrightianus. Phytopathol. Mediterr.*, **50:** 175−182.

Hadizadeh M. and Keyhani E. (2007) Toxic effect of cadmium and catalase activity in the corms of *Crocus sativus* L. *Acta Hort.(ISHS)*, **739:** 443-449.

Haygarth P.M., Harrison A.F., Jones K.C. (1993) Geograhpical and seasonal variation in deposition of Se to vegetation. Env. Sci. Tech., **27:**2878-2884.

Hori K., Hatfield D., Maldarelli F., Lee B.J., Clause K.A. (1997) Selenium supplementation suppresses tumor necrosis factor alphaindused human immunodeficiency virus type I replication *in vitro*. *AIDS Res. Hum. Retrovir.*, **13:** 1325-32.

Hosseinzadeh H., Younesi H.M. (2002) Antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol.*, **2:** 7.

Husaini A.M., Wani S.A., Sofi P., Rather A.G., Parray G.A., Shikari A.B., Mir J.I. (2009) Bioinformatics for saffron (*Crocus sativus* L.) improvement. *Communications in Biometry and Crop Science*, **4(1):** 3-8.

Imran S., Nehvi F.A., Wani S.A., Zaffar G., Khan M.A. (2010) Studies in relation to molecular variability in saffron. *Acta Hort. (ISHS),* **850:** 75-78.

Jansson B. (1980) The role of selenium as a cancer-protecting trace element. *Carcinogenicity and Metal Ions* (ed. H.Sigel). New York: Dekker, p. 281-311.

Konoshima T., Takasaki M. (2003) Anticarcinogenic activities of natural pigments from beet root and saffron. *Foods Food Ingredients J. Japan,* **208:** 615-622.

Li C.-Y., Wu T.-S. (2002) Constituents of the Stigmas of *Crocus sativus* and Their Tyrosinase Inhibitory Activity. *J. Nat. Prod.*, **65:** 1452-1456.

Li C.-Y., Wu T.-S. (2004) Antityrosinase principles and constituents of the petals of *Crocus sativus. J. Nat. Prod..* **67:** 437-440

Magesh V., Singh J.P.V., Selvendrian K., Ekambaram G., Sakthisekaran D. (2006) Antitumour activity of crocetin in accordance to tumor incidence, antioxidant status, druq metabolizing enzymes and histopathological studies. *Mol. Cell. Biochem.,* **287:** 127-135.

Mathew B. (1977) *Crocus sativus* L. and its allies (*Iridaceae*). *Plant Syst. Evol.*, **128:** 89-103.

Negbi M. (1999) Saffron cultivation: past, present and future prospects. In: M.Negbi (ed.): *Saffron: Crocus sativus* L. Australia: Harwood Academic Publishers, p. 1-18.

Ng B.N., Anderson J.W. (1979) Light-dependent incorporation of selenite and sulphite into selenocysteine and cysteine by isolated pea chloroplasts. *Phytochemistry,* **18:** 573-80.

Ochiai T., Ohno S., Soeda S., Tanaka H., Shoyama Y., Shimeno H. (2004) Crocin prevents the death of rat pheochromyctoma (PC -12) cells by its antioxidant effect stronger than those of α-tocopherol. *Neurosci. Lett.*, **62:** 61-64.

Papandreou M.A., Kanakis C.D., Polissiou M.G., Efthimiopoulos S., Cordopatis P., Margarity M., Lamari F.N. (2006) Inhibitory activity on amyloid'-β-aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* **54:** 8762-8768.

Pedrero Z., Elvira, Camara C., Madrid Y. (2007) Selenum transformation studies du7ring Broecoli (Brassica oleracea) growing process by, liquid Chromatography-inductively compled plasma mass spectrometry. *Analyt. Chim. Acta.,* **596:** 251-256.

Pilon-Smits E.A.H., de Souxa M.P., Hong G., Amini A., Bravo R.C. et al. (1999) Selenium volatilization and accumulation by twenty aquatie plan species. *J. Environ. Qual.*, **28:** 1011-1018.

Rayel R.M, Frankenberger WT Jr. (1996) Influence of pH, salinity, and selenium on the growth of *Aeromonas veronii* in evaporation agricultural drainage water. *Water Resour.*, **30:** 422-430.

Reamer D.S., Zoller W.H. (1980) Selenium biomethylation product from soil and sewage sludge. *Science* **208:** 500-2.

Sampathu S.R., Shivashankar S., Lewis Y.S. (1984) Saffron (*Crocus sativus* L.): Cultivation,

processing, chemistry and standardization. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **20:** 123-157.

Schnoor J.L. (1997) Phytoremidiation, Technology Overment Report Crand-Woter Remediation Technologies. *Analysis Center, Series E.* vol 1.

Soeda S., Ochiai T., Tanaka H., Shoyama Y., Shimeno H. (2005) Prevention of ischemic neuron death by a saffron´s carotenoid pigment crocin and its mechanism of action. *Focus Neurochem. Res.,* 139-156.

Straubinger M., Jezussek M., Waibel R., Winterhalter P. (1997) Novel glycosidic constituents from saffron. *J.Agr. Food Chem.,* **45:** 1678-1681.

Straubinger M., Bau B., Eckstein S., Fink M., Winterhalter P. (1998) Identification of novel glycosidic aroma precursors in saffron (*Crocus sativus* L.). *J. Agr. Chem.,* **46:** 328-3243.

Takahashi H., Saskura N., Noji M., Saito K. (1996) Isolation and characterization of a cDNA encoding sulfate transporter from *Arabodopsis thaliana*. *FEBS Lett.*, **392:** 95-99

Tammaro F. (1990) *Crocus sativus* L.- cv.Oiano di Navelli (L'Aqulla saffron):environment, cultivation, morphometric characteristics, activeprinciples, uses. In: F.Tommaro, L.Marra (eds). *Proceedings of the international conference on saffron (Crocus sativus L.). L'Aqulla* p. 47-57

Terry N., Zayed A.M. (1994) Selenium volatilization by plants. In: *Selenium in the Environment* (ed.WT.Frankenberger and S.Benson), p.343-367.

Terry N., Lin Z.Q. (1999) Managing high selenium in agricultural drainage water by agroforestry systems: role of selenium volatilization. *Rep. Calif. State Dep. Water Resourc, Sacramento.*

Terry N., Zayed A.M., de Souza M.P., Tarun A.S. (2000) Selenium in higher plants. *Annu. Rev. Physiol. Plant Mol. Biol.,* **51:** 401-37.

Thompson-Eagle E.T., Frankenberger W.T.Jr., Karlson U. (1989) Volatilization of selenium by *Alternaria alternate*. *Appl. Environ. Microbiol.,* **55:** 1406-1413.

Vavilov N.I. (1951) The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. The Cronica Botanica Co., Waltham, Mass.

Wang Y., Han T., Zhu Y., Zheng C.J., Ming Q.L., Rahman K. , Qin L.P. (2010) Antidepressant properties of bioactive fractions from the extract of *Crocus sativus* L. *Journal of Natural Medicines,* **64:** 24-30.

Winterhalter P., Straubinger M. (2000) Saffron: Renewed interest in an ancient spice. *Food Rev. Int.,* **16:** 39-59.

Yadollahi A., Azam-Ali, Cocking E., Shojaei Z.A. (2007) Possibility of growth and development of Saffron in the UK. *Acta Hort. (ISHS),* **739:** 139-149

Zayed A., Lytle C.M., Terry N. (1998). Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta*, **206:** 284-292.

Zəfəranın (*Crocus sativus* L.) Abşeron Populyasiyasının Biologiyasının Öyrənilməsi Strategiyası

T.Q. Qaragözov[1], K.Q. Qasımov[1] S.V. Sərkərov[1], E.N. Novruzov[1], P.Z. Muradov[2], İ.Ə. Şahmuradov[1]

[1]AMEA Botanika İnstitutu
[2] AMEA Mikrobiologiya İnstitutu

Yüksək farmakoloju keyfiyyəti ilə seçilən *C. sativus* L.-ın Abşeron populyasiyasının biologiyasının tədqiqi planı təklif olunur. Bir ekoforma kimi zəfəran istehsalının keyfiyyətinin standartlaşdırılma və sertifikasiyası məqsədi ilə, ekoformanın selen toplayıcısı kimi statusının təyin edilməsi, selenin transformasiya və dövr etməsində rizosfer bakteriyaların rolunun öyrənilməsi, ontogenetik inkişaf dövrlərinin müəyyən edilməsi və biotexnoloji çoxaldılmada hormon amillərinə kompetentlik mərhələlərinin aşkar edilməsi məqsədi ilə *Crocus sativus* L.-in hazırki populyasiyanın molekulyar-genetik, bniokimyəvi, mikrobioloji, və virusoloji tədqiqatları irəli sürülür.

Açar sözlər: *C. sativus L., selenat, selenit, ontogenez, ekoforma, biotexnologiya*

The Strategy Of Biology Study Of Absheron Population Of Saffron (*Crocus sativus* L.)

T.G. Garagezov[1], K.G. Gasumov[1] S.V. Sergerov[1], E.N. Novruzov[1], P.Z. Muradov[2], I.A. Shahmuradov[1]

[1]*Institute of Botany, ANAS*
[2] *Institute of Microbiology, ANAS*

The research plan on biology of Absheron population of *Crocus sativus* L., characterized by high pharmacological quality is proposed. The molecular-genetic, biochemical, microbiological and virological studies of this population for the purpose of standardization and quality certification of saffron as a ecoform, determination of the status of the ecoform as selenium-accumulator, elucidation of the role of rhizosphere bacteria in transformation and circulation of selenium, determination of the characteristics of the genetic control, setting of the period of ontogenetic development and determining steps of competence to hormonal factors at biotechnological breeding *C. sativus* L. are offered.

Key words: *C. sativus L., selenate, selenite, ontogenesis, ecoform, biotechnology*